

**PRODUCTION OF N-PROTECTED-L-alpha-ASPARTYL-L-PHENYLALANINE**

**Patent number:** JP62263197  
**Publication date:** 1987-11-16  
**Inventor:** TAKEMOTO TADASHI; others: 02  
**Applicant:** AJINOMOTO CO INC  
**Classification:**  
- **international:** C07K5/06; B01J27/10; B01J31/04; C07K1/06  
- **european:**  
**Application number:** JP19860104321 19860507  
**Priority number(s):**

**Abstract of JP62263197**

**PURPOSE:** To suppress formation of the beta-isomer as a by-product and obtain the titled alpha-isomer in high yield, by reacting an N-protected-L-aspartic acid anhydrite with L-phenylalanine in the presence of an inorganic or organic acid salt of an alkali (earth) metal.

**CONSTITUTION:** (A) An N-protected-L-aspartic acid anhydride is reacted with (B) L-phenylalanine within a region of  $\geq 7$  pH in an aqueous medium. In the process, an inorganic acid salt, preferably NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>, etc., or organic acid salt, preferably sodium acetate or potassium acetate, of an alkali (earth) metal is present in a molar amount of preferably 1-10 times based on the components (A) and (B). Furthermore, the reaction is preferably carried out at -20-60 deg.C within 2hr. The molar ratio of the components (A) to (B) is preferably 0.8-2.0.

---

Data supplied from the esp@cenet database - Patent Abstracts of Japan

## ⑫ 公開特許公報(A)

昭62-263197

⑪ Int. Cl.<sup>4</sup>

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和62年(1987)11月16日

C 07 K 5/06  
B 01 J 27/10  
31/04  
C 07 K 1/06

Z-8318-4H  
Z-6750-4G  
7158-4G  
8318-4H

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 N-保護-L-α-アスパルチル-L-フェニルアラニンの製法

⑮ 特 願 昭61-104321

⑯ 出 願 昭61(1986)5月7日

⑰ 発 明 者 竹 本 正 川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内  
⑰ 発 明 者 久 光 邦 夫 川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内  
⑰ 発 明 者 湯 川 利 秀 川崎市川崎区鈴木町1-1 味の素株式会社中央研究所内  
⑰ 出 願 人 味の素株式会社 東京都中央区京橋1丁目5番8号

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

N-保護-L-α-アスパルチル-L-  
フェニルアラニンの製法

## 2. 特許請求の範囲

N-保護したL-アスパラギン酸無水物とL-  
フェニルアラニンとを、水性媒体中pH7以上の領  
域で反応させる際、アルカリ金属あるいはアルカ  
リ土類金属の無機酸塩や有機酸塩を存在させるこ  
とを特徴とするN-保護-L-α-アスパルチル  
-L-フェニルアラニンの製法。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明はN-保護-L-α-アスパルチル-L-  
フェニルアラニンの製法に関する。更に詳しく  
はN-保護したアスパラギン酸無水物とL-フェ  
ニルアラニンとを、水性媒体中pH7以上の領域で反  
応させる際、アルカリ金属あるいはアルカリ土類  
金属の無機酸塩や有機酸塩を存在させることを特  
徴とするN-保護-L-α-アスパルチル-L-  
フェニルアラニンの製法に関する。

L-α-アスパルチル-L-フェニルアラニン  
メチルエステルは優れた甘味剤として知られてお  
り、その製造法も種々知られている。例えばN-  
保護-L-α-アスパルチル-L-フェニルアラ  
ニンは公知の技術により容易にL-α-アスパル  
チル-L-フェニルアラニンメチルエステルに導  
くことができることが知られている(特開昭53  
-82752、特開昭59-219258)。従  
ってN-保護-L-α-アスパルチル-L-フェ  
ニルアラニンを高収率、簡便な方法でえることが  
可能であればL-α-アスパルチル-L-フェニ  
ルアラニンメチルエステルの工業的な製法として  
極めて有利である。

従来N-保護-L-α-アスパルチル-L-フ  
ェニルアラニンの製法としては、L-フェニルア  
ラニンをN-保護-L-α-アスパラギン酸無水  
物とを反応させる方法(特公昭55-26133)  
が知られているが、これは反応を有機溶媒であり  
腐食性の強い酢酸中で行なうため、溶媒の分離回  
収装置の必要なこと、装置材質の腐食の面から工

業的な製法としては必ずしも満足なものとは言えなかった。

さきに本発明者らは、かかる欠点を有しないN-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンの製法を開発したが(特願昭60-144137)収率の面で十分といえるものでなかった。即ちN-保護-L-アスパラギン酸無水物とL-フェニルアラニンとの反応では目的とするN-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンの他にN-保護-L- $\beta$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンが副生するが、上記方法では、後者の生成を抑えらるという点では不十分であった。そこで、本発明者らはN-保護-L- $\beta$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンの生成を抑えN-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンとN-保護-L- $\beta$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンの生成比(以下、 $\alpha/\beta$ と略記する。)を向上させる方法に関して鋭意検討の結果、驚くべきことにN-保護-L-アスパラギン酸無水物とL-フェニルアラニンを水性媒体中反応させる

際、アルカリ金属あるいはアルカリ土類金属の無機酸塩や有機酸塩を存在させることにより、N-保護-L- $\beta$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンの生成を抑え、高収率でN-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニ<sup>ニ</sup>を得ることを見だし、本発明を完成させるに至った。

本発明方法に於いて用いられるN-保護-L-アスパラギン酸無水物の保護基としては、通常のペプチド合成に使用される保護基、例えば、ホルミル基、アセチル基、ベンジルオキシカルボニル基、t-ブトキシカルボニル基、1-メチル-2-アセチルビニル基、アセトアセチル基が用いられ、中でもホルミル基が好適に用いられる。

本発明に於いて用いられるアルカリ金属塩あるいはアルカリ土類金属塩としては塩化ナトリウム、塩化カリウム、塩化カルシウム等の無機酸塩及び酢酸ナトリウム、酢酸カリウム等の有機酸塩が好適に用いられる。又、その使用量については特に制限はないがN-保護-L-アスパラギン酸無水物あるいはL-フェニルアラニンに対して0.5~

20倍モル、より好ましくは1~10倍モルの範囲で使用することができる。

本発明に於いて用いられる溶媒としては水及び水と有機媒体との混合物が使用できる。このような有機溶媒としては反応物と不当に反応しない溶媒なら特に制限されず、メタノール、エタノール等のアルコール類、酢酸エチル、酢酸メチル等のエステル類、アセトン、メチルエチルケトン等のケトン類、テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル類、ジメチルホルムアミド、ジアセチルアミド等のアミド類が挙げられる。

反応温度としては-30~80℃でより好ましくは-20~60℃が好適に用いられる。

反応時間には特に制限はないが、N-保護-L- $\alpha$ -アスパラギン酸無水物とL-フェニルアラニン塩との反応速度は大きく、長時間行なう必要はなく通常は試薬の混合が完了して2時間以内に反応は完了する。

用いられるN-保護-L-アスパラギン酸無水物とL-フェニルアラニンのモル比は0.5~3.0、

より好ましくは0.8~2.0の範囲で使用する事ができる。

又、反応液のpHは7以上の範囲で任意に選択する事が出来る。

本発明に於いては、N-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンは塩の形で得られ、塩酸、硫酸等の酸で中和した後、晶析により、結晶のN-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンを得ることが出来るが、一方、単離する事なく溶液状態のままL- $\alpha$ -アスパルチル-L-フェニルアラニンメチルエステルへの変換反応に供することも出来る。

以下実施例に於いて詳細に説明するが、本発明の実施の態様はこれに限定されないことは勿論である。

#### 実施例1

L-フェニルアラニンナトリウム塩1水和物 12.4g (0.060モル) および塩化ナトリウム 17.6g (0.300モル) を水65mlに溶解し、-20℃に冷却した。同温度で攪拌下にN-ホル

ミル-L-アスパラギン酸無水物 9.5 g (0.066 モル) を 1 時間かけて添加した。その間、反応液の pH を 4 N NaOH 水溶液により 12.0 ~ 12.5 の間に保った。

その後、反応液中の For- $\alpha$ -AP を HPLC (高速液体クロマトグラフィ, High Performance Liquid Chromatography) により定量したところ、L-フェニルアラニンナトリウム塩 1 水和物に対し 73.5 % の収率で生成していた。他に N-ホルミル-L- $\beta$ -アスパルチル-L-フェニルアラニン (以下、For- $\beta$ -AP と略記する。) が 24.3 % 副生していた。

#### 実施例 2

L-フェニルアラニン 9.9 g (0.060 モル) 及び NaOH 2.4 g (0.060 モル) を水 65 ml に溶解した。塩化ナトリウム 17.6 g (0.300 モル) を添加し、-20℃ に冷却した後、攪拌下に N-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物 9.5 g

(0.066 モル) を 1 時間かけて添加した。その間 4 N NaOH 水溶液を添加して、反応液の pH を 12.0 ~ 12.5 の間に保った。

その後、反応液中の For- $\alpha$ -AP を HPLC により定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、73.5 % の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -AP は 24.5 % で副生していた。

#### 実施例 3

L-フェニルアラニン 9.9 g (0.060 モル) を水 50 ml に懸濁し、4 N NaOH 水溶液で pH を 12.0 に調整した。塩化ナトリウム 17.6 g (0.300 モル) を添加し、-20℃ に冷却した後、攪拌下に N-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物 9.9 g (0.069 モル) を 1 時間かけて添加した。その間 4 N NaOH 水溶液を添加して、反応液の pH を 12.0 ~ 12.5 に保った。

その後、反応液中の For- $\alpha$ -AP を HPLC により定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、73.2 % の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -AP は 24.4 % で副生していた。

#### 実施例 4

L-フェニルアラニン 9.9 g (0.060 モル) を水 80 ml に懸濁した後、塩化カリウム 22.4 g (0.300 モル) を加え、4 N NaOH で pH=12.0 に調整した。-10℃ に冷却し、攪拌下に N-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物 9.5 g (0.066 モル) を 40 分かけて添加した。その間、4 N NaOH を添加して、反応液の pH を 12.0 ~ 12.5 の間に保った。

その後、反応液中の For- $\alpha$ -AP を HPLC により定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、74.4 % の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -AP は 23.9 % 副生していた。

#### 実施例 5

L-フェニルアラニン 9.9 g (0.060 モル) を水 80 ml に懸濁した後、酢酸ナトリウム 24.6 g (0.300 モル) を加え、4 N NaOH で pH=12.0 に調整した。5℃ に冷却し、攪拌下に N-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物 9.5 g (0.066 モル) を 1 時間かけて添加した。その間、4 N NaOH

を添加して、反応液の pH を 12.0 ~ 12.5 の間に保った。

その後、反応液中の For- $\alpha$ -AP を HPLC により定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、71.3 % の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -AP は 26.4 % 副生していた。

#### 実施例 6

L-フェニルアラニン 9.9 g (0.060 モル) を水 50 ml に懸濁した後、塩化ナトリウム 17.6 g (0.300 モル) を加え、4 N NaOH で pH=10.0 に調整した。-20℃ に冷却し、攪拌下に N-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物 9.5 g (0.066 モル) を 1 時間かけて添加した。その間、4 N NaOH を添加して、反応液の pH を 10.0 ~ 10.5 の間に保った。

その後、反応液中の For- $\alpha$ -AP を HPLC により定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、71.5 % の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -AP は 26.3 % 副生していた。

#### 実施例 7

L-フェニルアラニン9.9 g (0.060モル) を水50 mlに懸濁した後、塩化カリウム13.4 (0.018モル)を加え、4N NaOHでpH=12.0に調整した。-15℃に冷却し、攪拌下にN-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物9.5 g (0.066モル)を1時間かけて添加した。その間、4N NaOHを添加して、反応液のpHを12.0~12.5の間に保った。

その後、反応液中のFor- $\alpha$ -APをHPLCにより定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、71.9%の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -APは25.2%副生していた。

#### 実施例8

L-フェニルアラニン9.9 g (0.060モル) を水65 mlに懸濁した後、塩化ナトリウム17.6 g (0.300モル)を加え、4N NaOHでpH=12.0に調整した。-20℃に冷却し、攪拌下にN-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸無水物9.5 g (0.066モル)を1時間かけて添加した。その間、4N NaOHを添加して、反応液のpH

を12.0~12.5の間に保った。

その後、反応液中のN-ベンジルオキシカルボニル-L-アスパラギン酸無水物をHPLCにより定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、72.6%の収率で生成していた。一方、N-ベンジルオキシカルボニル-L- $\beta$ -アスパラギン酸無水物は24.5%副生していた。

#### 実施例9

L-フェニルアラニン9.9 g (0.060モル) を水65 mlに懸濁した後、塩化ナトリウム17.6 g (0.300モル)を加え、4N NaOHでpH=12.0に調整した。-20℃に冷却し、攪拌下にN-アセチル-L-アスパラギン酸無水物9.5 g (0.066モル)を1時間かけて添加した。その間、4N NaOHを添加して、反応液のpHを12.0~12.5の間に保った。

その後、反応液中のN-アセチル-L- $\alpha$ -アスパラギン酸無水物をHPLCにより定量したところ、L-フェニルアラニン対

し、63.2%の収率で生成していた。一方、N-アセチル-L- $\beta$ -アスパラギン酸無水物は21.3%副生していた。

#### 実施例10

L-フェニルアラニン9.9 g (0.060モル) を水50 ml、メタノール15 mlの混合溶媒に懸濁した後、塩化ナトリウム17.6 g (0.300モル)を加え、4N NaOHでpH=12.0に調整した。-20℃に冷却し、攪拌下にN-ホルミル-L-アスパラギン酸無水物9.5 g (0.066モル)を1時間かけて添加した。その間、4N NaOHを添加して、反応液のpHを12.0~12.5の間に保った。

その後、反応液中のFor- $\alpha$ -APをHPLCにより定量したところ、L-フェニルアラニンに対し、65.3%の収率で生成していた。一方、For- $\beta$ -APは23.3%副生していた。

#### 比較例1

L-フェニルアラニンナトリウム塩・1水和物12.4 g (0.060モル)を水65 mlに溶解し、5℃に冷却した。同温度で攪拌下にN-ホルミル

L-アスパラギン酸無水物9.5 g (0.066モル)を1時間かけて添加した。その間反応液のpHを4N NaOH水溶液により12.0~12.5の間に保った。

その後反応液中のN-ホルミル-L- $\alpha$ -アスパラギン酸無水物(L-フェニルアラニン(以下、For- $\alpha$ -APと略記する)をHPLC (High Performance Liquid Chromatography、高速液体クロマトグラフィー)により定量したところ、L-フェニルアラニンナトリウム塩・1水和物に対し68.2%の収率で生成していた。他にN-ホルミル-L- $\beta$ -アスパラギン酸無水物(L-フェニルアラニン)が30.0%等が副生していた。

特許出願人 味の素株式会社

手続補正書

昭和61年 6月3日

特許庁長官殿

61-104321

適

## 1. 事件の表示

昭和61年5月7日付特許願(3)

## 2. 発明の名称

N-保護-L- $\alpha$ -アスパルチル-L-  
フェニルアラニンの製法

## 3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 東京都中央区京橋一丁目5番8号

名称 (006)味の素株式会社

代表者 取締役社長 歌田勝弘

## 4. 補正命令の日付

自発

## 5. 補正により増加する発明の数

なし

## 6. 補正の対象

明細書の発明の詳細な説明の欄



(9) 明細書第5頁下から4行目「通常は試薬の」の前に「反応温度にもよるが」を加入する。

(10) 明細書第6頁2行目「ができる。」の後に「場合によってはL-フェニルアラニン塩の濃度が低い方が好収率を与えることがあり、このような場合には反応媒体のpH値を7以上の範囲で適宜に調節する事により任意のL-フェニルアラニン塩の濃度を得ることが出来る。」を加入する。

(11) 明細書第6頁4行目「事が出来る。」の後に「pHの調節はアルカリ金属又はアルカリ土類金属の水酸化物又は炭酸塩或いは有機アミン類をもちいるとよい。」を加入する。

(12) 明細書第6頁「L-フェニルアラニンは塩の形で得られ、」を「L-フェニルアラニンはアルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、有機アミン塩等の塩の形で得られるので、」と訂正する。

(13) 明細書第8頁11行目「・・・に調整した。」を「・・・に調整した。」と訂正する。

(14) 明細書第11頁下から2行目「9.5 g」を「16.4 g」と訂正する。

## 7. 補正の内容

(1) 明細書第2頁下から6行目「保護したアスパラギン酸無水物」を「保護したL-アスパラギン酸無水物」と訂正する。

(2) 明細書第2頁下から5行目「 $\alpha$ -」を削除する。

(3) 明細書第5頁4行目「有機媒体との」を「有機溶媒との」と訂正する。

(4) 明細書第5頁5行目「・・・としては反応物」の後に「及び生成物」を加入する。

(5) 明細書第5頁11行目「・・・のアミド類」の後に「及びトルエン等の芳香族炭化水素類」を加入する。

(6) 明細書第5頁12行目「反応温度としては」の後に「N-保護-L-アスパラギン酸の加水分解の点から」を加入する。

(7) 明細書第5頁12行目「・・・80℃」を「・・・80℃下」と訂正する。

(8) 明細書第5頁下から6行目「 $\alpha$ -」を削除する。

(15) 明細書第12頁6行目「ベンジルオシキカルボニル」を「ベンジルオキシカルボニル」と訂正する。

(16) 明細書第12頁14行目「9.5 g」を「10.4 g」と訂正する。

(17) 明細書第13頁2行目「アセチル- $\beta$ -アスパルチル」を「アセチル-L- $\beta$ -アスパルチル」と訂正する。

(18) 明細書第14頁5~13行目「その後反応液中の・・・が副生していた。」を「その後反応液中のFor- $\alpha$ -APをHPLCにより定量したところ、L-フェニルアラニンナトリウム塩・1水和物に対し68.2%の収率で生成していた。他にFor- $\beta$ -APが30.0%等が副生していた。」と訂正する。

以上